บทที่ 6

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

6.1 สรุปผลการทดลอง

6.1.1 จุลินทรีย์และการเพาะเลี้ยง

เพาะเลี้ยง *L. delbrueckii* TISTR 108 ในอาหารเหลว GYP ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 33 ชั่วโมง และ *Z. rouxii* NRRL Y-2547 ในอาหารเหลว YM ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 27 ชั่วโมง สำหรับใช้เป็นเซลล์มีชีวิตในการศึกษาการห่อหุ้มด้วยแคปซูลเล็ก

6.1.2 ภาวะที่เหมาะสมของการเตรียมเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็ก

ภาวะที่เหมาะสมของการเตรียมเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็ก สรุปได้ดังตารางที่ 6.1

ตารางที่ 6.1 สรุปภาวะที่เหมาะสมของการเตรียมเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็ก

ภาวะ	เซลล์จุลินทรีย์	
	L. delbrueckii	*Z. rouxii*
1. ปริมาณเซลล์เริ่มต้น (เซลล์ต่อมิลลิลิตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ)	$4.5-10.0 \times 10^{8}$	$2.0-5.2 \times 10^{7}$
2. ความเข้มข้นของ 1,6-hexanediamine (ร้อยละโดยน้ำหนัก)	2	7
3. ความเข้มข้นของ sebacoylchloride (ร้อยละโดยปริมาตร)	5	6
4. อัตราส่วนของตัวทำละลายผสม cyclohexane:chloroform ที่มี Span 85 ร้อยละ 1 โดยปริมาตร	5:1	5:1
5. การสร้างผลิตภัณฑ์จากอาหารเหลว GYP (แบคทีเรียแลคติก) และ YM (ยีสต์)	กรดแลคติก 0.98 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	แอลกอฮอล์ ร้อยละ 0.682 โดยปริมาตร

6.1.3 ลักษณะของเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็ก

เยื่อบางของแคปซูลเล็กของ *L. delbrueckii* และ *Z. rouxii* สามารถรักษาเซลล์ให้มีชีวิตรอดอยู่ได้ และไม่มีเซลล์อิสระหลุดเข้าไปในอาหารเลี้ยงเชื้อ เมื่อเพาะเลี้ยงไว้เป็นเวลาประมาณ 1 เดือน และเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กของแบคทีเรียและยีสต์มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโดยเฉลี่ยเท่ากันคือ ประมาณ 4 ไมครอน โดยเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กทั้งสองชนิดมีความทนทานต่อเกลือสูงถึงร้อยละ 20 โดยน้ำหนักได้ดีกว่าเซลล์อิสระ กล่าวอีกนัยหนึ่งคือ เซลล์ในแคปซูลเล็กสามารถผลิตกรดแลคติกและแอลกอฮอล์จากอาหารเหลวที่มีเกลือร้อยละ 20 ได้ในปริมาณสูงกว่าในกรณีของเซลล์อิสระ ทั้งนี้สืบเนื่องจากเซลล์อิสระได้รับผลกระทบกระเทือนได้ง่ายกว่าเซลล์ในแคปซูลเล็กนั่นเอง

6.1.4 การหมักน้ำชีอิ๊วแบบไม่ต่อเนื่อง

เมื่อทดลองหมักกรดแลคติกและแอลกอฮอล์ในน้ำชีอิ๊วแบบไม่ต่อเนื่องโดยใช้สารละลายสำหรับหมักเป็นโปรตีนไฮโดรไลเซตจากถั่วเหลืองที่มีกรดแลคติก 1.04 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และไม่มีแอลกอฮอล์ มีเกลือประมาณร้อยละ 20 โดยน้ำหนัก เป็นองค์ประกอบ และมีการเติมกลูโคสเข้มข้นร้อยละ 1 โดยน้ำหนัก เพื่อเป็นแหล่งคาร์บอนให้กับจุลินทรีย์ทั้งสองชนิด พบว่า เมื่อหมักที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน เซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กของ *L. delbrueckii* สามารถผลิตกรดแลคติกได้ 0.78 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และเมื่อนำสารละลายที่ได้นี้ไปหมักแอลกอฮอล์ต่อโดยเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กของ *Z. rouxii* ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน พบว่า สามารถผลิตแอลกอฮอล์ได้ร้อยละ 0.54 โดยปริมาตร

6.1.5 การหมักน้ำชีอิ๊วอย่างต่อเนื่องโดยใช้เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็ก

ในการทดลองหมักกรดแลคติกและแอลกอฮอล์ในน้ำชีอิ๊วโดยใช้เครื่องปฏิกรณ์เซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กของ *L. delbrueckii* และ *Z. rouxii* ขนาด 2.0x30 เซนติเมตร มีปริมาตรใช้งานต่อเครื่องเท่ากับ 110 ลูกบาศก์เซนติเมตร รวม 3 เครื่องต่อเนื่องกัน คิดเป็นปริมาตรรวม 330 ลูกบาศก์เซนติเมตร โดยแปรปริมาณกลูโคสในโปรตีนไฮโดรไลเซตเริ่มต้น 3

ระดับคือ ร้อยละ 0, 0.5 และ 1.0 โดยน้ำหนัก ควบคุมอัตราการไหลของโปรตีนไฮโดรไลเซต ที่ 20 ลูกบาศก์เซนติเมตรต่อนาที กำหนดปริมาตรของโปรตีนไฮโดรไลเซตคงที่เท่ากับ 1000 ลูกบาศก์เซนติเมตร และควบคุมปริมาณเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กในแต่ละคอลัมน์คงที่เท่ากับ 10 กรัม เวลาในการหมักในแต่ละคอลัมน์เท่ากับ 12 ชั่วโมง และการไหลวนซ้ำเท่ากับ 14.4 รอบต่อคอลัมน์ สรุปผลการทดลองได้ดังนี้

เมื่อเวลาในการหมักในเครื่องปฏิกรณ์เป็น 72 ชั่วโมงเท่ากัน การใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตที่เติมกลูโคสร้อยละ 0.5 เป็นสารละลายสำหรับหมัก จะผลิตกรดแลคติกและแอลกอออล์ในปริมาณที่ไม่แตกต่างจากการใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตที่เติมกลูโคสร้อยละ 1.0 แต่มีร้อยละของการเปลี่ยนเมื่อเปรียบเทียบจากปริมาณกลูโคสที่ใช้ไปสูงกว่า จากการเปรียบเทียบลักษณะด้านต่าง ๆ ของน้ำซีอิ๊วที่ผลิตได้กับผลิตภัณฑ์ประเภทเดียวกันพบว่า น้ำซีอิ๊วที่ผลิตได้มีปริมาณแอลกอออล์มากที่สุด แต่มีส่วนประกอบที่ให้กลิ่นน้อยกว่าน้ำซีอิ๊วที่มีจำหน่ายในเชิงพาณิชย์และมีส่วนประกอบที่ให้กลิ่นใกล้เคียงกับน้ำซอสปรุงรส ส่วนการยอมรับน้ำซีอิ๊วที่ผลิตได้อยู่ในเกณฑ์ดีเช่นเดียวกับน้ำซีอิ๊วและน้ำซอสปรุงรสที่มีจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ นอกจากนี้เซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กหลังการใช้งานมีลักษณะแตกต่างจากก่อนใช้งานเล็กน้อยแต่ยังไม่มีการแตกของแคปซูลเล็ก

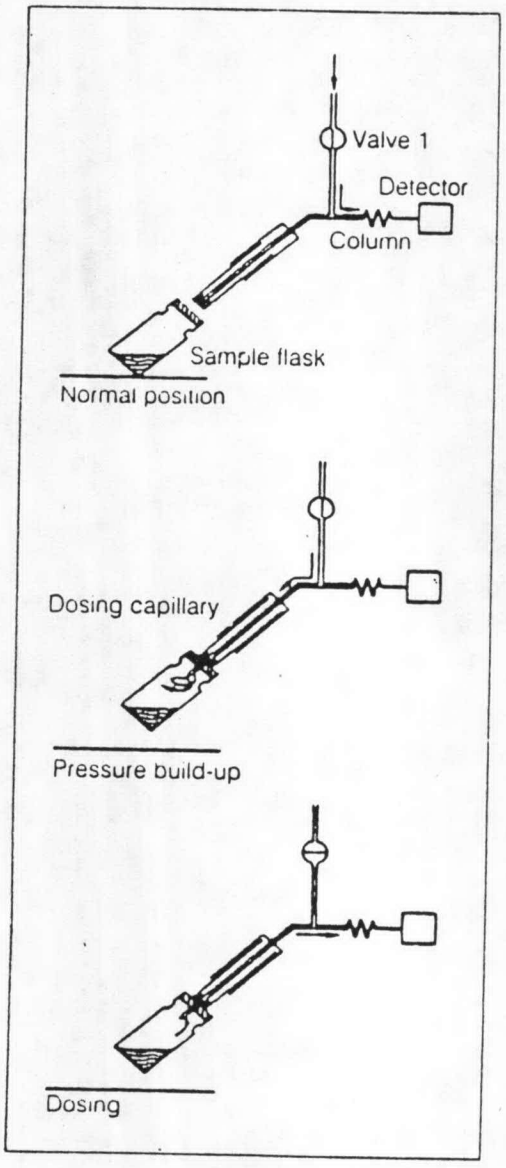
6.2 ข้อเสนอแนะ

การห่อหุ้มโดยการเกิดแคปซูลเล็กจากมอนอเมอร์พวก 1,6-hexanediamine และ sebacoylchloride โดยวิธี interfacial polymerization ที่เลือกทดลองนี้ มีการนำมาใช้ในการห่อหุ้มเอนไซม์กันอย่างกว้างขวาง แต่ยังไม่ปรากฏว่ามีการทดลองใช้กับเซลล์จุลินทรีย์ชนิดใด ๆ เลย ซึ่งจากผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่า การห่อหุ้มเซลล์ด้วยแคปซูลเล็กมีข้อได้เปรียบกว่าการตรึงรูปวิธีอื่น ๆ บางประการ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อใช้ห่อหุ้มเซลล์ของ *Z. rouxii* พบว่า ให้ผลผลิตของแอลกอฮอล์สูงกว่ากรณีของเซลล์อิสระ จึงนับได้ว่าเป็นการพบทางเลือกที่นำมาใช้กับเซลล์จุลินทรีย์สำหรับกระบวนการหมักทางชีวภาพ

การทดลองผลิตน้ำซีอิ๊วโดยวิธีการผสมผสานนี้ นับเป็นอีกแนวทางหนึ่งสำหรับการพัฒนาผลิตภัณฑ์ที่ดีในอุตสาหกรรมประเภทเดียวกัน โดยสามารถใช้ผลการทดลองที่ได้นี้เป็นข้อมูลเบื้องต้นสำหรับประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมต่อไป อย่างไรก็ตาม ยังมีจุดที่น่าสนใจศึกษาในเรื่องการตรวจสอบชนิดของส่วนประกอบที่ให้กลิ่นรส (flavor components) ในน้ำซีอิ๊วนั้น ซึ่งต้องอาศัยความระมัดระวังในขั้นตอนการสกัดกลิ่นรสออกมา จากการศึกษาของ Nunomura และคณะ (1976) พบว่า ขั้นตอนการสกัดกลิ่นรสประกอบด้วยการกลั่นภายใต้ความดันต่ำ (reduced pressure) ใน glass flash-vacuum-evaporator ที่ความดัน 20 มิลลิเมตรของปรอท การสกัดกับไดคลอโรมีเธน (dichloromethane) และการทำให้เข้มข้น จากนั้นนำไปวิเคราะห์โดยใช้แก๊สโครมาโตกราฟแบบ capillary column ร่วมกับการใช้ mass spectrometry เพื่อหาความแตกต่างของชนิดของส่วนประกอบที่ให้กลิ่นรส โดยได้ข้อสรุปอย่างชัดเจนว่า สามารถตรวจพบส่วนประกอบที่ให้กลิ่นรสที่ไม่เคยรายงานมาก่อนถึง 15 ชนิด

การทดลองนี้ได้นำเสนอการวิเคราะห์ส่วนประกอบที่ให้กลิ่นโดยวิธีการวิเคราะห์แก๊สในช่องว่างเหนือของเหลว ซึ่ง Berlin (1989) กล่าวว่า การควบคุมคุณภาพแบบรวดเร็ว (fast quality control) โดยการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบที่ระเหยได้ (volatile compounds) โดยเทคนิคต่าง ๆ ของ Headspace gas chromatography (HSGC) เช่น เทคนิค E-HSGC (equilibration HSGC) หรือเทคนิค MHE (multiple headspace extraction

เริ่มมีการนำมาใช้กันอย่างแพร่หลาย โดยเฉพาะการควบคุมกระบวนการผลิตหรือการควบคุมคุณภาพ เช่น การวิเคราะห์กลิ่น และการวิเคราะห์น้ำ (water analysis) เป็นต้น โดยข้อได้เปรียบที่สำคัญของ HSGC เมื่อเปรียบเทียบกับแก๊สโครมาโตกราฟีที่ใช้กันอยู่ทั่วไป คือ ไม่ต้องมีขั้นตอนการแยก (isolation) หรือการทำความสะอาด (clean up procedure) โดยเฉพาะอย่างยิ่งสำหรับในกรณีที่ตัวอย่างเป็นของแข็งหรือตัวอย่างอยู่ในลักษณะที่ไม่เป็นเนื้อเดียวกัน (inhomogeneous) วิธีวิเคราะห์ HSGC นี้ จัดอยู่ในกลุ่มของวิธีแบบเร็ว (rapid method) เนื่องจากการเก็บตัวอย่างสามารถทำได้โดยวิธีการอัตโนมัติ (automatically in on-line operation) และต่อเชื่อมกับการแยกทางโครมาโตกราฟ (chromatographic separation) ดังแสดงในรูปที่ 6.1



รูปที่ 6.1 การเก็บตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์โดยเทคนิค HSGC

ที่มา: Berlin (1989)